

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Andrea Pavić**

**Nealkoholna masna bolest jetre**

**Diplomski rad**



**Zagreb, 2018.**

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za gastroenterologiju i hepatologiju Klinike za unutarnje bolesti Kliničkog bolničkog centra "Sestre milosrdnice"

Medicinskog fakulteta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Lucije Virović Jukić i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2017/2018.

## Popis kratica s objašnjenjem

acetyl-CoA (*engl.* acetyl coenzyme A) – acetil-koenzima A

ALT (*engl.* alanine aminotransferase) - alanin-aminotransferaza

AST (*engl.* aspartate aminotransferase) - aspartat-aminotransferaza

ATP (*engl.* adenosine triphosphate) – adenozin-trifosfat

cAMP (*engl.* cyclic adenosine monophosphate) – ciklički adenozin-monofosfat

CAP (*engl.* controlled attenuation parameter) – kontrolirani parametar atenuacije

CT (*engl.* computed tomography)-kompjuterizirana tomografija

FGF-21 (*engl.* Fibroblast growth factor 21) – fibroblastni čimbenik rasta 21

GLUT 4 (*engl.* glucose transporter type 4) – transporter glukoze tip 4

GGT (*engl.* gamma-glutamyl transferase) –  $\gamma$ -glutamil-transferaza

HDL (*engl.* high-density lipoprotein) – lipoprotein velike gustoće

IKKB (*engl.* inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase) - inhibitor nuklearnog faktora kappa-B kinaza

IL-8 (*engl.* Interleukin 8) – interleukin 8

IRS (*engl.* Insulin receptor substrate) – supstrat inzulinskog receptora

ITM – indeks tjelesne mase

LSM (*engl.* liver stiffness measurements) – mjera jetrene tvrdoće

MAPK (*engl.* mitogen-activated protein kinase) – mitogenom aktivirana protein kinaza

MR (*engl.* magnetic resonance) – magnetska rezonancija

NAFL (*engl.* nonalcoholic fatty liver) – nealkoholna masna jetra

NAFLD (*engl.* nonalcoholic fatty liver disease) – nealkoholna masna bolest jetre

NASH (*engl.* nonalcoholic steatohepatitis) – nealkoholni steatohepatitis

NFkB (*engl.* Nuclear factor kappa B) – nuklearni faktor kappa B

NHANES (*engl.* National Health and Nutrition Examination Survey) – Pregled istraživanja nacionalnog zdravlja i prehrane

NK stanice (*engl.* natural killer cells) prirodno ubilačke stanice

PCOS (*engl.* polycystic ovary syndrome) – sindrom policističnih jajnika

PKA (*engl.* protein kinase A) – protein-kinaza A

PKC (*engl.* protein kinase C) – protein-kinaza C

PPAR (*engl.* peroxisome proliferators-activated receptors) – peroksisomski proliferator–aktivirani receptor

ROS (*engl.* reactive oxygen species) – reaktivni spojevi kisika

$\alpha$ -SMA (*engl.* alpha-smooth muscle actin) – aktin glatkih mišića  $\alpha$

SREBP (*engl.* sterol regulatory element-binding proteins) - protein koji veže regulacijski element sterola

TNF- $\alpha$  (*engl.* tumor necrosis factor alfa) – čimbenik tumorske nekroze  $\alpha$

TNF-R1 (*engl.* tumor necrosis factor receptor 1) – receptor čimbenika tumorske nekroze  $\alpha$

TGF-  $\beta$  (*engl.* transforming growth factor beta) - transformirajući faktor rasta  $\beta$

VLDL (*engl.* very-low-density lipoprotein) – lipoproteini vrlo male gustoće

# **SAŽETAK**

## **Nealkoholna masna bolest jetre**

**Andrea Pavić**

Nealkoholna masna bolest jetre definirana je pretjeranim nakupljanjem masti u jetri, koje se dokazuje histološki ili slikovnim metodama, uz odsustvo drugih uzroka steatoze. Uključuje dva entiteta: nealkoholnu masnu jetru i nealkoholni steatohepatitis s mogućnošću progresije prema fibrozi i cirozi. Procijenjena globalna prevalencija bolesti je oko 25% i dalje je u porastu. Patogeneza bolesti je složena, a najčešće je objašnjavana teorijom „dvostrukog udarca“, od kojih je prvi nakupljanje masti, a drugi oštećenje hepatocita i upala. Dodatni mehanizmi su uključeni u razvoj fibroze. Nealkoholna masna bolest jetre usko je vezana uz inzulinsku rezistenciju, a značajni su u patogenezi i različiti proupalni citokini i adipokini. Klinička slika je nespecifična, a u dijagnostici se koriste laboratorijski nalazi, slikovne metode i biopsija jetre, koja je još uvijek zlatni standard za potvrdu dijagnoze i procjenu uznapredovalosti bolesti. Liječenje treba biti individualno, a učinak u liječenju pokazuju gubitak na tjelesnoj masi i povećanje tjelesne aktivnosti, farmakološka terapija pioglitazonom i vitaminom E, te operativni zahvati usmjereni redukciji tjelesne mase. Nealkoholna masna bolest jetre može dovesti i do smrtnih ishoda uzrokovanih samom bolešću jetre, ali češće su uzrok smrti pridružene kardiovaskularne bolesti.

Ključne riječi: nealkoholna masna bolest jetre, inzulinska rezistencija, steatoza, nealkoholni hepatitis, ciroza



## **SUMMARY**

### **Nonalcoholic fatty liver disease**

**Andrea Pavić**

Nonalcoholic fatty liver disease is defined as the presence of hepatic fat accumulation, proven by histological analysis or imaging techniques, in the absence of other causes of steatosis, and includes two entities: nonalcoholic fatty liver and nonalcoholic steatohepatitis with possible progression to fibrosis and cirrhosis. The estimated global prevalence of the disease is around 25% and it is increasing. The pathogenesis of the disease is complex, and is usually explained by the "two hits" hypothesis, the first of which is fat accumulation and the other damage to hepatocytes and inflammation. Additional mechanisms are involved in the development of fibrosis. Nonalcoholic fatty liver is associated with insulin resistance, but other different cytokines and adipokines are also involved in the pathogenesis of the disease. Clinical feature is nonspecific, and in diagnosing laboratory findings, imaging techniques, and liver biopsy are used. Liver biopsy still remains the gold standard for diagnosis and assessment of disease progression. The treatment should be tailored individually, and the effect can be achieved by body mass reduction, increase in physical activity, pharmacologic therapies with pioglitazone and vitamin E, and bariatric surgery. Nonalcoholic fatty liver disease can lead to death, caused by the liver disease alone, but more frequently causes of death are associated with cardiovascular diseases.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, insulin resistance, steatosis, nonalcoholic hepatitis, cirrhosis

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. EPIDEMIOLOGIJA .....	2
2. 1. PORAST PREVALENCIJE .....	3
2. 2. EPIDEMIOLOGIJA U RIZIČNIM SKUPINAMA.....	3
2. 3. PROCJENA EPIDEMIOLOGIJE U HRVATSKOJ .....	5
3. PATOGENEZA BOLESTI.....	6
3. 1. METABOLIZAM MASTI U JETRI .....	6
3. 2. INZULINSKA REZISTENCIJA U RAZVOJU BOLESTI .....	7
3. 2. 1. DJELOVANJE INZULINA .....	7
3. 2. 2. MEHANIZAM NASTANKA INZULINSKE REZISTENCIJE .....	8
3. 2. 3. UTJECAJ INZULINSKE REZISTENCIJE NA RAZVOJ MASNE PROMJENE JETRE .....	9
3. 3. PROGRESIJA BOLESTI PREMA NEALKOHOLNOM STEATOHEPATITISU .....	11
3. 4. PROGRESIJA BOLESTI PREMA FIBROZI I CIROZI .....	13
3. 5. ULOGA ADIPOKINA U RAZVOJU I PROGRESIJI BOLESTI .....	14
3. 6. ULOGA CRIJEVNE MIKROBIOTE U RAZVOJU I PROGRESIJI BOLESTI .....	15
4. KLINIČKA SLIKA I DIJAGNOSTIKA.....	17
4. 1. ANAMNEZA I FIZIKALNI PREGLED .....	17
4. 2. LABORATORIJSKI NALAZI .....	18
4. 3. SLIKOVNE METODE .....	18
4. 4. BIOPSIJA JETRE.....	21
4. 5. NEINVAZIVNE METODE ZA PROCJENU TEŽINE BOLESTI .....	25
5. LIJEČENJE .....	26
6. PROGNOZA BOLESTI .....	28
7. ZAKLJUČAK.....	29
8. ZAHVALE .....	30
9. LITERATURA .....	31
10. ŽIVOTOPIS.....	44

## 1. UVOD

Nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD, od engl. *nonalcoholic fatty liver disease*) postaje najčešći uzrok kronične bolesti jetre u razvijenim zapadnim zemljama (1), jedan od glavnih uzroka smrti u Europi (2) i Sjedinjenim Američkim Državama (3), te najčešći uzrok poremećenih vrijednosti jetrenih enzima (4). Definirana je pretjeranim nakupljanjem masti koje se dokazuje histološki ili slikovnim metodama, uz odsustvo drugih uzroka steatoze, kao što su značajna konzumacija alkohola, nasljedne bolesti ili upotreba lijekova koji pospješuju steatozu (5). Histološki je možemo podijeliti u dva entiteta koji imaju i svoj klinički značaj, a to su: (i) nealkoholna masna jetra (NAFL, od engl. *nonalcoholic fatty liver*), definirana prisutnošću masti u više od 5% hepatocita, bez znakova upale ili baloniranja stanica, te (ii) nealkoholni steatohepatitis (NASH, od engl. *nonalcoholic steatohepatitis*), kod kojeg uz prisutnost masti u više od 5% hepatocita nalazimo i znakove upale i baloniranje stanica s ili bez fibroze (5,6). Klinički značaj podjele vidljiv je iz istraživanja Matteonia i Younossia (7), kojim su ustanovili da je progresija bolesti prema cirozi i smrtnim ishodima uzrokovanim bolestima jetre češća u pacijenata kojima su histološki uz akumulaciju masti i upalu dokazani znakovi degeneracije stanica ili fibroza. Uz to, sve je više dokaza da je NAFLD vodeći etiološki uzrok kriptogene ciroze (8).

Prvi put je zabilježena 1980. godine, kada su Ludwig i suradnici opisali slučaj 20 bolesnika s nealkoholnim steatohepatitisom, te već tada naslutili moguću povezanost sa sada već definiranim čimbenicima rizika, debljinom i šećernom bolesti (9).

Aktualne smjernice Američkog društva za bolesti jetre navode debljinu, dijabetes tipa 2, dislipidemiju i metabolički sindrom kao sigurne čimbenike rizika povezane s razvojem nealkoholne masne bolesti jetre, a spominju i druge za koje još nema sigurnih dokaza kao što su hipotiroidizam, hipogonadizam, hipopituitarizam, opstruktivna apneja u snu i sindrom policističnih jajnika (5).

## 2. EPIDEMIOLOGIJA

Epidemiologiju nealkoholne masne bolesti jetre možemo pratiti kroz njenu incidenciju i prevalenciju. Nažalost, podatci o incidenciji bolesti su manjkavi (5,10) i nedostaje odgovarajuća studija koja bi dala podatke o globalnoj incidenciji NAFLD-a. Za sada su poznati podatci o incidenciji na području Japana (11,12) gdje po njihovim studijama iznosi godišnje 31-86 na 1000 osoba. U Europi je zabilježena studija provedena u Engleskoj, koja je pratila godišnju incidenciju i drugih bolesti jetre, te nam daje podatak da je godišnja incidencija NAFLD-a 29 na 100.000 osoba, ali i da je veća od incidencije drugih jetrenih bolesti kao što su virusni hepatitis (20 na 100.000 osoba), alkoholne bolesti jetre (17 na 100.000 osoba) i ostalih (13).

Najveća studija o incidenciji NAFLD-a provedena je u Minnesoti u trajanju od 20 godina i bilježi incidenciju od 329 slučajeva na 100.000 osoba. Značajan podatak studije je i peterostruki porast incidencije od početka studije kada je iznosila 62 na 100.000 osoba (14).

Studije o prevalenciji bolesti su brojnije. Zadnja provedena meta-analiza 2016. godine bilježi globalnu prevalenciju NAFLD-a dokazanu slikovnim metodama od 25,24% (95% CI 22,10-28,65), no pokazuje i razlike u prevalenciji ovisno o regiji. Tako najveću prevalenciju bolesti imaju zemlje Srednjeg Istoka (31,79%, 95% CI 13,48-58,23) i Južne Amerike (30,45%, 95% CI 22,74-39,44). Najmanja prevalencija zabilježena je u Africi gdje iznosi 13,48% (95% CI 5,69-28,69). Prevalencija bolesti u Europi procijenjena je na 23,71% (95%CI 16,12-33,45) (15).

## **2. 1. PORAST PREVALENCIJE**

Porast prevalencije globalno primijećen je već ranije. Uzimajući kao definiciju NAFLD-a porast aminotransferaza u serumu, uz odsustvo drugih uzroka, u Pregledu istraživanja nacionalnog zdravlja i prehrane (NHANES) primijećen je porast prevalencije sa 5,5% u razdoblju od 1988. do 1994. na 9,8% u razdoblju između 1999. i 2004., dok je između 2005. i 2008. prevalencija iznosila 11% (1). Pod sumnjom da definiranje NAFLD-a mjereći isključivo razine aminotransferaza može dovesti do podcjenjivanja prave pojavnosti bolesti (jer dio bolesnika može imati uredne vrijednosti aminotransferaza), 2013. napravljena je nova studija. Uključivala je pacijente iz NHANES studije u razdoblju od 1988. do 1994., a bolest je detektirana ultrazvukom. Zabilježena je prevalencija od 19% (16), što govori o važnosti odabira pravog dijagnostičkog sredstva pri dijagnosticiranju NAFLD. Porast prevalencije u odnosu na godinu objavljivanja studije zabilježen je i u velikoj meta analizi.

## **2. 2. EPIDEMIOLOGIJA U RIZIČNIM SKUPINAMA**

Uz porast prevalencije nealkoholne masne bolesti jetre, zamijećen je i porast prevalencije drugih komponenti metaboličkog sindroma (1), što su primijetili već Ludwig i suradnici u prvom opisu bolesti (9).

Daljnja istraživanja potvrđivala su prve sumnje o čimbenicima rizika za razvoj nealkoholne masne bolesti jetre. Među glavnima su debljina (17), dijabetes (18) i inzulinska rezistencija (19). Nakon što je 2001. metabolički sindrom definiran kao prisutnost najmanje 3 dokazane komponente od 5 mogućih (20), istraživan je kumulacijski učinak više čimbenika rizika na razvoj nealkoholne masne bolesti jetre.

Pet komponenti metaboličkog sindroma su:

- glukoza na tašte  $\geq 6,1$  mmol/L (110 mg/dL)
- opseg struka  $\geq 102$  cm za muškarce, odnosno  $\geq 88$  cm za žene
- krvni tlak  $\geq 130/80$  mmHg ili farmakološki liječena hipertenzija

- razina triglicerida  $\geq 1,7$  mmol/L (150 mg/dL) ili farmakološki liječena hiperlipidemija
- razina HDL-kolesterola  $< 1,04$  mmol/L (40 mg/dL) za muškarce, odnosno 1,29 mmol/L (50 mg/dL) za žene

Čimbenici rizika istraživani su u studiji na 304 bolesnika s nealkoholnom masnom bolesti jetre bez do tada ustanovljene dijagnoze šećerne bolesti. Promatrajući zasebno kriterije, primijećeno je višestruko ponavljanje pojedinih komponenti u bolesnika s NAFLD-om, a dokazana je statistički značajna povezanost hiperglikemije s razvojem nealkoholnog steatohepatitisa. Metabolički sindrom, kao kumulacija više zasebnih čimbenika rizika, bio je povezan s većim rizikom za razvoj nealkoholnog steatohepatitisa (OR, 3.2; 95% CI, 1.2-8.9;  $P=0.026$ ), ali i za razvoj uznapredovale ciroze (OR, 3.5; 95% CI, 1.1-11.2;  $P=0.032$ ). Za ostale kriterije zasebno nije potvrđena statistički značajna povezanost, no objašnjeno je prisutnošću sustavnih pogrešaka odstupanja uzorkovanja (21).

Novije epidemiološke studije potvrđuju veću prevalenciju bolesti u rizičnim skupinama, kao i veću pojavnost rizičnih čimbenika u oboljelih. Tako je prevalencija debljine u bolesnika s NAFLD-om po posljednoj meta analizi 51% (15), dok u općoj populaciji iznosi 36,9% u muškaraca, odnosno 38% u žena (22). Obrnuto gledajući, steatoza jetre potvrđena je u 57% ljudi s prekomjerenom tjelesnom masom (23), odnosno u čak 93% pretilih pacijenata podvrgnutih ugradnji želučane prenosnice (24). Slično je primijećeno i sa dijabetesom, pa je tako prevalencija dijabetesa u bolesnika s NAFLD-om 22,51% (15) u usporedbi s prevalencijom u općoj populaciji gdje iznosi 8,8 % (25). Obratno gledajući, prevalencija NAFLD u bolesnika s dijabetesom tipa 2 iznosi 69,4% (26).

## 2. 3. PROCJENA EPIDEMIOLOGIJE U HRVATSKOJ

Procjena epidemiologije NAFLD-a u Hrvatskoj otežana je zbog manjka provedenih studija koje bi odredile točnu prevalenciju bolesti. Ipak hrvatski autori procjenjuju da prevalencija odgovara onoj u zemljama Zapadne Europe od oko 20% - 40% (27). Dodatno, prevalenciju možemo pretpostaviti i iz poznatih epidemioloških podataka o pretilosti i dijabetesu. Uzimajući podatak da u Hrvatskoj oko 58% odraslih ima indeks tjelesne mase (ITM) iznad  $25 \text{ kg/m}^2$  (28), a da globalno među osobama s prekomjerenom tjelesnom masom prevalencija NAFLD-a iznosi 57%, dobivamo podatak da u Hrvatskoj 33,1% populacije boluje od NAFLD-a. Prema podacima Nacionalnog registra osoba sa šećernom bolešću (CroDiab) 2015. godine u Hrvatskoj su registrirane 260.092 punoljetne osobe s dijagnozom šećerne bolesti (29), a broj punoljetnih osoba za 2015. procijenjen je na 3.449.154 (30), što daje podatak da 7,54% punoljetnih osoba boluje od dijabetesa. Izračunom prevalencije NAFLD-a među bolesnicima sa šećernom bolesti dobivamo podatak da u Hrvatskoj tek 5,23% populacije boluje od NAFLD-a. Uzrok ovako velike razlike u procjeni prevalencije NAFLD-a na temelju prevalencije dvaju najznačajnija čimbenika rizika za razvoj bolesti, vjerojatno je činjenica da je podcijenjena prava prevalencija dijabetesa prema podacima registra zbog toga što u nekih osoba nije dijagnosticiran, ili nisu prijavljene u registar. Povezanost NAFLD-a s komponentama metaboličkog sindroma potvrđena je i u Hrvatskoj, u studiji na 648 bolesnika s barem jednom komponentom metaboličkog sindroma kojima se pristupilo procjeni steatoze i fibroze neinvazivnom metodom tranzijetne elastografije. Kontrolirani parametar atenuacije (CAP, od engl. *controlled attenuation parameter*), koji upućuje na steatozu, bio je značajno povećan u 88,3 % bolesnika u studiji, a mjera jetrene tvrdoće (LSM, od engl. *liver stiffness measurements*) koji upućuje na fibrozu u 16,5% bolesnika (31). Potrebno je provesti još studija koje bi točno procijenile prevalenciju NAFLD-a u Hrvatskoj.

### 3. PATOGENEZA BOLESTI

Nastanak nealkoholne masne bolesti jetre, kao i njena progresija složen je mehanizam, koji je najčešće objašnjavan teorijom „dvostrukog udarca“ (32) od kojih je prvi nakupljanje masti, najčešće kao posljedica inzulinske rezistencije, a drugi oštećenje hepatocita i posljedična upala (33). Zajedno ova dva koraka dovode do krajnjeg oštećenja hepatocita kada su nadmašeni mehanizmi preživljavanja hepatocita i dovode do smrti stanice i posljedične fibroze, što je za neke autore „treći“ udarac, važan u mehanizmu progresije bolesti do ciroze (34). U današnje vrijeme sve se više koristi teorija „višestrukih udara“ u kojoj se pretpostavlja da više čimbenika djeluje sinergistički u genetički predisponirane osobe dovodeći do NAFLD (32, 35). U ovom odjeljku rada cilj je prikazati osnovne patogenetske mehanizme odgovorne za nastanak i progresiju NAFLD-a.

#### 3. 1. METABOLIZAM MASTI U JETRI

Normalna razina lipida u jetri ovisna je o ravnoteži nekoliko procesa:

- ulasku slobodnih masnih kiselina oslobođenih iz perifernog masnog tkiva;
- *de novo* sintezi slobodnih masnih kiselina u jetri;
- $\beta$ -oksidaciji masnih kiselina;
- esterifikaciji masnih kiselina u trigliceride i izlasku triglicerida u obliku lipoproteina vrlo male gustoće (VLDL od engl. *very low density lipoproteins*) (36).

Steatoza nastaje kada sinteza triglicerida nadmaši sintezu VLDL-a, čime je onemogućen izlazak triglicerida iz jetre u cirkulaciju (34). Za taj prvi korak u razvoju i progresiji NAFLD-a, odgovornom se smatra inzulinska rezistencija, koja je usko vezana uz pojavnost debljine i dijabetesa tipa 2, odnosno glavnih čimbenika rizika NAFLD (36). Osim toga, dokazana je i povezanost nealkoholne masne bolesti jetre s inzulinskom rezistencijom u pacijenata bez dijabetesa (19).



### 3. 2. INZULINSKA REZISTENCIJA U RAZVOJU BOLESTI

Inzulinska rezistencija je stanje smanjenog odgovora perifernog tkiva na djelovanje inzulina (37). Kako u perifernom masnom tkivu inzulin uobičajeno suprimira lipolizu, zbog inzulinske rezistencije lipoliza je pojačana, što rezultira pojačanim otpuštanjem slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju (38). Inzulinska rezistencija se javlja i na poprečno prugastim mišićima, gdje je zbog rezistencije smanjen unos glukoze u krvi i posljedično tome nastaje hiperglikemija. Hiperglikemiju registriraju  $\beta$ -stanice gušterače, koje s ciljem regulacije hiperglikemije otpuštaju inzulin što rezultira hiperinzulinemijom (39).

Upravo su pojačana lipoliza u perifernim tkivima i hiperinzulinemija glavni patofiziološki procesi povezani s razvojem steatoze (39).

#### 3. 2. 1. DJELOVANJE INZULINA

Inzulin svoje djelovanje ostvaruje preko receptora iz skupine tirozin-kinaza, gdje vezanjem na  $\alpha$ -podjedinicu aktivira autofosforilaciju  $\beta$ -podjedinice. Posljedica toga je aktivacija kinaze receptora i nakupljanje supstrata inzulinskog receptora (IRS, od engl. *insulin-receptor substrate*), ali i drugih supstrata receptora kao što su vezujući protein 1 povezan s GRB2 (Gab 1), Cbl (od engl. *Casitas B-lineage Lymphoma*) i adaptor protein sa SH2 (Src Homology 2) skupinom (APS). Fosforilacijom IRS-a stvaraju se mjesta za prepoznavanje molekula efektor a sa SH2 domenom, kao što su vezni protein 2 receptora faktora rasta (Grb2) i fosfatidil-inozitol-3-fosfat-kinaze (PI3-K) (40). Dva su glavna puta za daljnji prijenos inzulinskog signala ostvarena upravo preko ova dva proteina: supstrat inzulinskog receptora-fosfatidil-inozitol-3-fosfat-kinaze (IRS-PI3-K) i mitogenom aktivirane protein kinaze (MAPK). MAPK je put kojim se prenose signali za rast i proliferaciju stanica potaknuti inzulinom, a IRS-PI3-K je put kojim inzulin sudjeluje u unosu glukoze u stanicu i potiče sintezu glikogena (39). Metaboličke učinke inzulin ostvaruje i putem Cbl-Cbl vezujući protein (Cbl-CAP) kompleksa kojim aktivira signalni put preko G-proteina, što na kraju rezultira ekspresijom GLUT 4 transportera na stanici (39). Signalnim putem IRS-PI3-K potiče ekspresiju SREBP-1c, proteina koji potiče ekspresiju gena

odgovornih za lipogenezu, pojačava sintezu slobodnih masnih kiselina i ubrzava akumulaciju triglicerida (41). IRS-PI3-K pokazuje antilipolitički učinak i u masnom tkivu, u kojem se uobičajeni lipolitički put odvija preko cAMP-a, aktivacijom protein-kinaze A (PKA) i stimulacijom lipaze osjetljive na hormone. Vežući se za svoje receptore na masnom tkivu i IRS-PI3-K, inzulin potiče hidrolizu cAMP-a i time inhibira aktivnost lipaze osjetljive na hormone (42).

### 3. 2. 2. MEHANIZAM NASTANKA INZULINSKE REZISTENCIJE

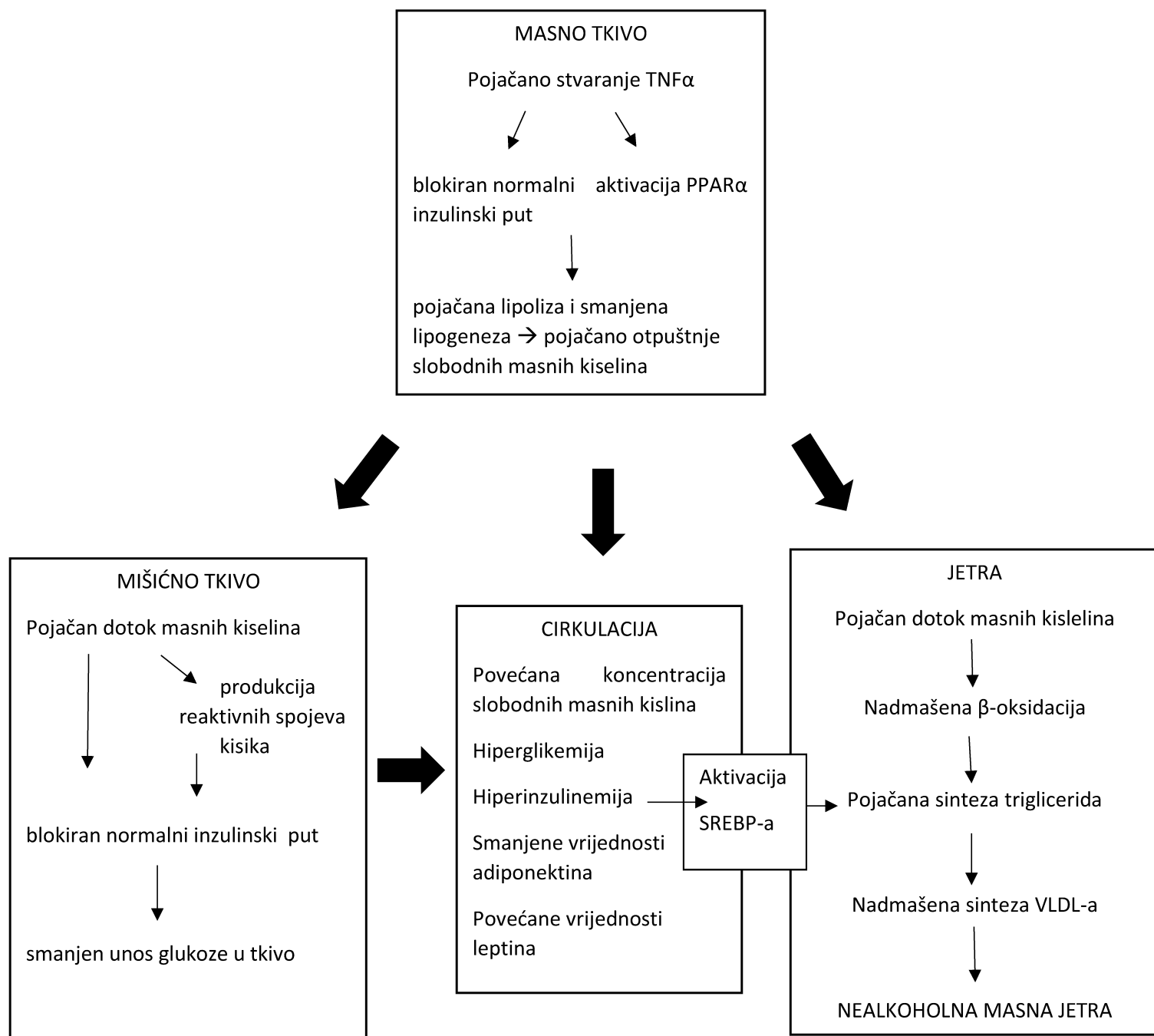
Inzulinska rezistencija usko je povezana s debljinom (43). Naime, masno tkivo u ljudskom organizmu nije isključivo odgovorno za pohranu energije, već je i endokrini organ koji ima svoju funkciju, kako u metabolizmu steroidnih hormona, tako i u metaboličkim procesima u udaljenim stanicama i tkivima. Opisano je nekoliko proteina s endokrinom funkcijom, među kojima su leptin, adiponektin, ali i brojni proupalni citokini (44). Produkcija proupalnih citokina ide u prilog već opisanom stanju debljine kao blage kronične upale (45), a dokazana je i povezanost indeksa tjelesne mase i veličine adipocita s infiltracijom makrofaga (46). Osim pojačane infiltracije makrofaga u masno tkivo, debljina dovodi do promjene u polarizaciji makrofaga iz stanja M2 u M1, karakterizirano pojačanim otpuštanjem proupalnih citokina (47). Jedan od njih je čimbenik tumorske nekroze  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ , od engl. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), a nekoliko studija pokazuje povezanost produkcije TNF- $\alpha$  i inzulinske rezistencije (48,49,50). Mehanizam kojim TNF- $\alpha$  dovodi do inzulinske rezistencije je serinska fosforilacija IRS-1 kojom nadmašuje normalan put preko fosforilacije tirozina i aktivacije IRS-PI3-K za izlaganje GLUT 4 receptora na površinu stanice. Osim toga, aktivacijom tirozin-fosfataze naglo zaustavlja već potaknut prijenos inzulinskog signalnog puta (51), a vežući se na PPAR $\gamma$  receptor blokira njegov učinak sinteze lipida i pohrane masti (43). Smatra se da TNF- $\alpha$  direktno utječe na inzulinsku rezistenciju samo lokalno i da nije odgovoran za sistemsku inzulinsku rezistenciju (52). Tako u masnom tkivu lokalno dovodi do smanjene lipogeneze i pojačane lipolize s posljedičnim pojačanim otpuštanjem slobodnih masnih kiselina u cirkulaciju (53).

Pojačanim otpuštanjem slobodnih masnih kiselina opisuje se indirektni učinak TNF- $\alpha$  na inzulinsku rezistenciju. U mišićnom tkivu slobodne masne kiseline i njihovi unutarstanični metaboliti (ceramidi, acil-CoA i diacilglicerol) aktiviraju serin-treonin kinaze kao što su protein-kinaza C (PKC, engl. *protein kinase C*), nuklearni faktor kappa B (NFkB) i inhibitor nuklearnog faktora kappa-B kinaza (IKKB) te na isti način kao i TNF- $\alpha$ , fosforilacijom serina IRS-1 ometaju signalni put inzulina odgovoran za unos glukoze. Dodatni mehanizam je pojačana produkcija reaktivnih spojeva kisika (ROS) koji aktiviraju PKC i time fosforilaciju serina IRS-a (54). Na isti način blokiran je i signalni put inzulina u hepatocitima, gdje još dodatno stimulirajući glukoneogenezu nadmašuje djelovanje inzulina (54).

### **3. 2. 3. UTJECAJ INZULINSKE REZISTENCIJE NA RAZVOJ MASNE PROMJENE JETRE**

Kao što je već spomenuto, inzulinska rezistencija u masnom tkivu dovodi do promjena u metabolizmu lipida i rezultira pojačanim otpuštanjem slobodnih masnih kiselina (53). Osim što otpuštanje slobodnih masnih kiselina ima učinak u razvoju sistemske inzulinske rezistencije, utjecaj ima i na razvoj masne promjene jetre. Ukupni pojačani dotok slobodnih masnih kiselina nadmašuje mogućnosti jetre za oksidaciju istih, te slobodne masne kiseline podliježu esterifikaciji i sintezi triglicerida kako bi se otklonio višak. Kada sinteza triglicerida nadmaši sintezu VLDL-a, nastaje steatoza (34). Hiperinzulinemija također daje svoj doprinos u razvoju steatoze iako je nepoznato kako je zadržana osjetljivost pojedinih metaboličkih puteva na inzulin u jetri u osoba s inzulinskom rezistencijom. Na osjetljivim stanicama inzulin inhibira PKA, čime inhibira lipoprotein-lipazu i aktivira fosfofruktokinazu odgovornu za sintezu acetylCoA – supstrata za sintezu masnih kiselina (39). Pozitivan učinak na lipogenezu u jetri hiperinzulinemija ostvaruje i aktivirajući protein koji veže regulacijski element sterola 1 (SREBP-1) (36). To potvrđuje i studija provedena na miševima koja pokazuje pojačanu ekspresiju SREBP-1 u jetri za vrijeme hiperinzulinemije, dok je ekspresija SREBP-1 u drugim tkivima snižena (41). Tako nastala steatoza predstavlja „prvi udarac“ u razvoju nealkoholne

masne bolesti jetre, a nakupljeni trigliceridi, iako sami po sebi nisu hepatotoksični, biljeg su izloženosti jetre potencijalnom toksičnom učinku slobodnih masnih kiselina u njoj (34).



Slika 1. Razvoj nealkoholne masne jetre

### 3. 3. PROGRESIJA BOLESTI PREMA NEALKOHOLNOM STEATOHEPATITISU

Oštećenje hepatocita i posljedična upala čine takozvani „drugi udarac“ u progresiji masne bolesti jetre rezultirajući nealkoholnim steatohepatitisom (NASH). Mehanizmi koji do toga dovode su brojni i nisu u potpunosti poznati (33), a među najčešće predlaganima su oksidativni stres i peroksidacija lipida, produkcija proupalnih citokina i adipocitokini (36).

Oksidativni stres označava poremećaj u ravnoteži između oksidansa i antioksidansa, u korist oksidansa, s posljedičnim oštećenjem stanica. U razvoju nealkoholnog steatohepatitisa glavnu ulogu u produkciji oksidansa ima prekomjerno nakupljanje slobodnih masnih kiselina (55). Već spomenutim načinom, slobodne masne kiseline u jetri dovode do inzulinske rezistencije, što rezultira pojačanom oksidacijom u mitohondrijima (36). Masne kiseline su također prirodni ligand za PPAR $\alpha$  koji su usko vezani za katabolizam masnih kiselina ekspresijom gena za enzime mitohondrijske  $\beta$ -oksidacije (56). Pojačana  $\beta$ -oksidacija rezultira pojačanom produkcijom reaktivnih kisikovih spojeva, primarno superoksida (57). U metabolizam slobodnih masnih kiselina uključene su i mikrosomske oksidaze kao i sustav citokroma P4502E1 i P4504A, koji redukcijom molekuskog kisika stvaraju reaktivne spojeve (58). Pojačana ekspresija citokroma P4502E1 u bolesnika s NASH-om (59, 60) govori u prilog tom mehanizmu nastanka oksidativnog stresa. Stvaranju oksidativnog stresa doprinosi i oksidacija lipida u peroksisomima, praćena pojačanom produkcijom vodikovog peroksida (61). Posljedice djelovanja ROS-a su višestruke. Osim što uzrokuju inaktivaciju pojedinih enzima koji sudjeluju u staničnom disanju (62), dovode i do oštećenja mitohondrijske DNA (63). Posljedično oštećenju mitohondrijske DNA smanjeno se stvaraju enzimi staničnog disanja (respiracijski lanac), značajno raste produkcija kisikovih radikala (64). Smatra se i da posljedično smanjena produkcija ATP-a doprinosi oštećenju hepatocita (65). Prisutnost specifičnih promjena mitohondrija kao što su parakristalinske inkluzije, vidljive u nekim mitohondrijskim miopatijama, navodi neke autore na mišljenje da je oštećenje mitohondrija mogući uzrok razvoja NASH-a,

no još je istraživanja potrebno da bi razjasnilo uzročno-posljedičnu vezu oštećenja mitohondrija i NASH-a (66).

Nadalje, ROS reagiraju s nezasićenim masnim kiselinama formirajući lipidne perokside čime se oštećuju stanične membrane. Sekundarni produkti lipidne peroksidacije, malondialdehid (MDA) i 4-hidroksi-2,3-transnonenala također uzrokuju oštećenje stanice, a pošto su im vrijednosti mjerljive, mogu se koristiti kao markeri lipidne oksidacije i oksidativnog stresa (55). Uz reaktivne kisikove spojeve vezana je i pojačane ekspresija Fas liganada na hepatocitima, koji reagirajući s Fas receptorima na okolnim hepatocitima uzrokuju apoptozu (67).

Proupalni citokini također imaju ulogu u progresiji bolesti (68). Osim što nastaju produkcijom u masnom tkivu (46), ekspresiju im podižu i spomenuti reaktivni spojevi kisika (69) i akumulirane masne kisline (70). TNF- $\alpha$  djelujući na TNF-R1 aktivira višestruke mehanizme, koji konačno dovode do apoptoze hepatocita (71). Interleukin-6, čija je funkcija smanjenje oksidativnog stresa i prevencija mitohondrijske disfunkcije, smatran je protektivnim faktorom u steatozi jetre. Ipak, time što aktivira različite stanice imunskog sustava i potiče sintezu proteina akutne upale, ne smije se zanemariti potencijalna uloga u progresiji nealkoholne masne bolesti jetre. Interleukin-8 (IL-8) je kemokin kojem je glavna uloga aktivacija nakupljanja neutrofila unutar upaljenog tkiva. Iako nema puno informacija o ulozi IL-8 u patogenezi NAFLD, neke studije bilježe veće vrijednosti IL-8 u pacijenata s NASH-om u odnosu na zdrave ili osobe s isključivo masnom jetrom. Brojni drugi citokini i kemokini su također opisani u progresiji bolesti (72).

### 3. 4. PROGRESIJA BOLESTI PREMA FIBROZI I CIROZI

Iako većina bolesnika s nealkoholnom masnom jetrom neće razviti cirozu, kada se razvije steatohepatitis taj rizik značajno raste. U zdravoj jetri, odgovor na staničnom smrću induciran oporavak tkiva ostvaren je replikacijom zdravih hepatocita. U nealkoholnoj masnoj bolesti jetre zdravi hepatociti bili su izloženi kroničnom upalnom i apoptotičkom stresu te mehanizmi koji omogućuju njihov opstanak ograničavaju njihovu replikaciju (34).

S druge strane, najizravniija posljedica stanične smrti hepatocita je aktivacija susjednih jetrenih zvjezdastih stanica, koja je ujedno i najraniji događaj u oporavku tkiva jetre. Stanična smrt i posljedični regenerativni/reparativni procesi su navedeni „treći udarac“ u progresiji bolesti (34). Aktivacija jetrenih zvjezdastih stanica označava preobrazbu iz stanica čija je uloga skladištenje vitamina A u miofibroblaste (Itove stanice), koji imaju sposobnost proliferacije, kontrakcije i kemotaksije, te pojačano otpuštaju proteine izvanstaničnog matriksa (73). U produkciji proteina izvanstaničnog matriksa ulogu imaju i druge stanice, kao što su portalni fibroblasti i glatke mišićne stanice (74).

U aktivaciji zvjezdastih stanica ulogu imaju hepatociti, endotelne stanice, Kupfferove stanice, limfociti i trombociti, dok novije studije pokazuju da prirodnoubilačke stanice (NK, engl. *natural killer cells*) inhibiraju fibrozne promjene jetre direktno ubijajući aktivirane Itove stanice, što otvara jednu novu mogućnost liječenja fibroze jetre. Različitim mehanizmima stanice potiču aktivaciju zvjezdastih stanica, pa tako DNA iz hepatocita učinak ostvaruje vežući se na Toll-like receptor 9, dok većina ostalih djeluje produkcijom medijatora kao što su trombocitni čimbenik rasta (PDGF, engl. *platelet derived growth factor*) odgovoran za proliferaciju jetrenih zvjezdastih stanica ili transformirajući čimbenik rasta beta (TGF- $\beta$ , engl. *transforming growth factor  $\beta$* ) koji potiče produkciju kolagena (75). Objašnjena je i uloga ROS-a u razvoju fibroze, točnije, studije pokazuju sposobnost jetrenih zvjezdastih stanica da prepoznaju produkte lipidne peroksidacije i posjedično pojačano sintetiziraju fibronektin i kolagen (76). Leptin i adiponektin također su važni u razvoju fibroze (77,78).

Aktivirane zvjezdaste stanice postaju kontraktilne zahvaljujući pojačanoj ekspresiji aktina glatkih mišića  $\alpha$  ( $\alpha$ -SMA, engl. *smooth muscle actin*  $\alpha$ ), ali i dodatnim mehanizmima zavisnim i nezavisnim o  $\text{Ca}^{2+}$ . Posljedično tome razvija se perisinusoidalna kontrakcija i portalna hipertenzija. Ipak, glavna uloga aktiviranih zvjezdastih stanica je produkcija izvanstaničnog matriksa, uglavnom kolagena tipa 1, kao odgovor na stimulaciju TGF-om  $\beta$  (75). Fibroza u bolesnika s NASH-om je najčešće vezana uz zonu 3, a dokazana pojačana aktivnost zvjezdastih stanica u toj zoni dokaz je njihove funkcije u patogenezi bolesti (79).

### 3. 5. ULOGA ADIPOKINA U RAZVOJU I PROGRESIJI BOLESTI

Adiponektin i leptin najvažniji su adipokini u razvoju kroničnih bolesti jetre, pa tako i NAFLD-a (80). Studije pokazuju hepatoprotektivne učinke adiponektina, koje ostvaruje poticanjem  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina, inhibicijom sinteze masnih kiselina, a djeluje i protu-upalno smanjenjem produkcije TNF- $\alpha$  u jetri (81). Dodatno, poboljšava osjetljivost hepatocita na inzulin, što rezultira smanjenom sintezom glukoze u jetri (82) i još nedovoljno objašnjenim mehanizmima sprječava aktivaciju jetrenih zvjezdastih stanica odgovornih za progresiju bolesti prema fibrozi (83). Unatoč tome što je masno tkivo izvor adiponektina, njegova koncentracija u plazmi je značajno manja u pretilih osoba, osobito kod kojih prevladava visceralno masno tkivo. (84). Smanjenje vrijednosti adiponektina u korelaciji je i s histološkim nalazom uznapređovalosti bolesti (85). Što točno dovodi do smanjenja vrijednosti adiponektina nije u potpunosti poznato, a navode se genetski uzroci i hiperinzulinemija (85), dok neki smatraju da su TNF- $\alpha$  i ROS odgovorni za to (36).

Nasuprot vrijednostima koncentracije adiponektina, koncentracija leptina u pretilih je povećana, a kao potencijalni uzroci navode se stimulacijski učinak estrogena, supresijski učinak androgena i proupalni citokini (84). Učinci leptina odgovorni za razvoj NAFLD-a su razvoj inzulinske rezistencije inaktivacijom IRS-1 (86) i aktivacija hepatalnih zvjezdastih stanica (80).

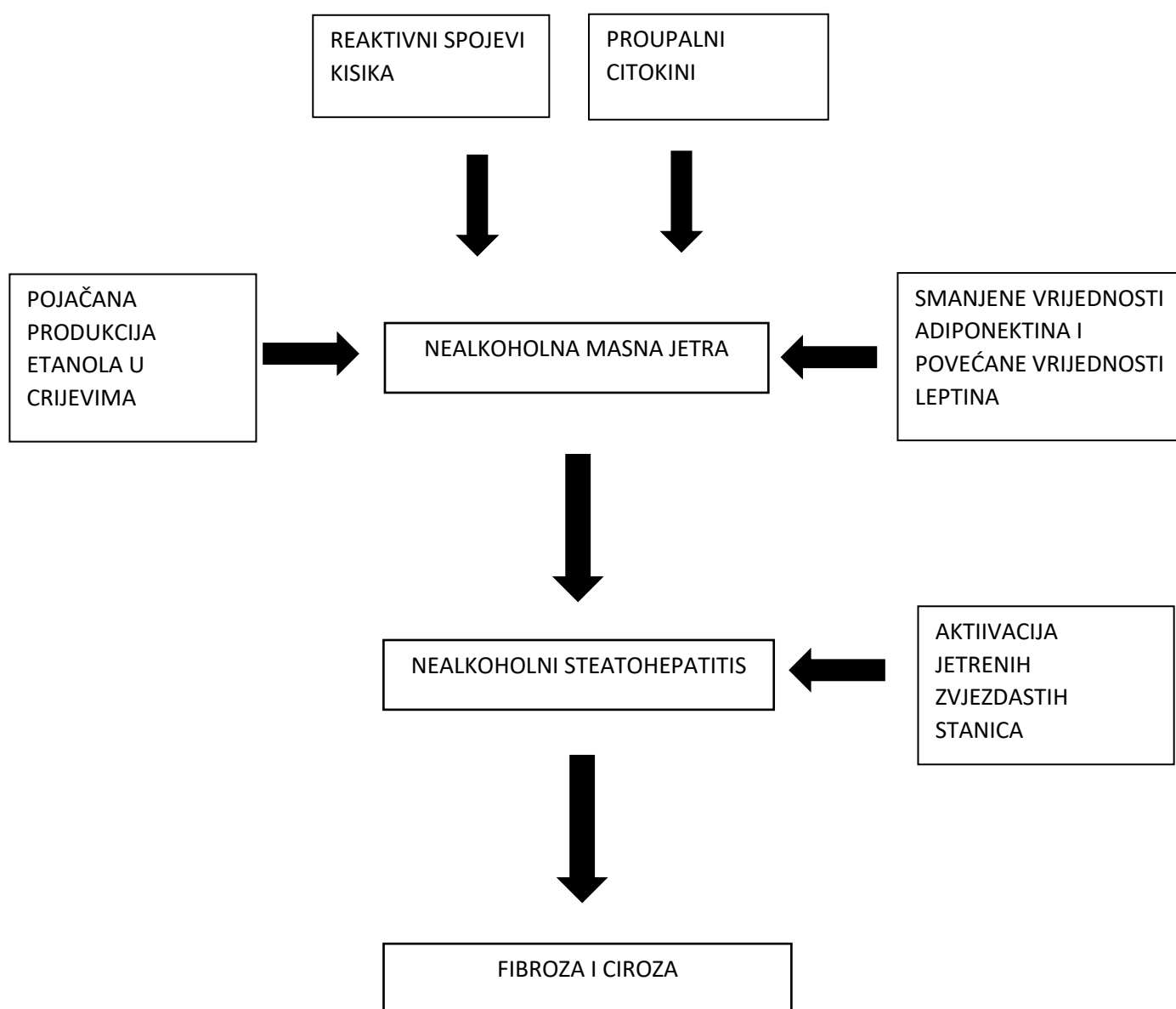


### **3. 6. ULOGA CRIJEVNE MIKROBIOTE U RAZVOJU I PROGRESIJI BOLESTI**

Bolesnici s NASH-om imaju značajno jače razvijenu bakterijsku floru tankog crijeva u usporedbi s kontrolnom skupinom. Jedno od potencijalnih objašnjenja za to je dijabetes, usko vezan uz NASH, a koji je uzrok smanjenog motiliteta crijeva što pogoduje razvoju bakterija. Patogenetski mehanizmi koji bi mogli potaknuti razvoj NASH-a su i pojačana permeabilnost crijeva, povećane vrijednosti endotoksina i TNF- $\alpha$  (87).

Kasnije provedena studija dokazuje značajno pojačanu permeabilnost crijeva u bolesnika s NAFLD-om, u koleraciji s uznapredovalošću steatoze, ali ne i s pojavom NASH-a, pa se smatra da je pojačana permeabilnost crijeva vezana uz pojačano odlaganje masti u jetri (88). Zbog sličnosti s alkoholnom bolesti masne jetre, smatra se da postoji i neki zajednički mehanizam u razvoju i progresiji bolesti, a predložen je upravo etanol, povezan s metabolizmom crijevnih bakterija. Tome u prilog govore i rezultati studije koja potvrđuje veće koncentracije etanola u izdahnutom zraku u pretilih osoba u odnosu na kontrolnu skupinu (89).

Klinički je važno spomenuti poboljšanje steatohepatitisa nakon primjene metronidazola, što podržava činjenicu da je *Bacteroides*, zbog osjetljivosti na dani antibiotik, povezan s razvojem bolesti (87), a na animalnim modelima je pokazano poboljšanje histološkog nalaza i vrijednosti ALT-a nakon primjene probiotika (90).



Slika 2. Progresija nealkoholne masne bolesti jetre prema fibrozi i cirozi

## 4. KLINIČKA SLIKA I DIJAGNOSTIKA

### 4. 1. ANAMNEZA I FIZIKALNI PREGLED

Većina bolesnika s nealkoholnom masnom bolesti jetre je bez simptoma, dok rijetki navode neke od simptoma kao što su slabost, mučnina ili bol, odnosno nelagoda u gornjem desnom kvadrantu abdomena (18, 91). Anamnestički su u oboljelih često prisutni komorbiditeti kao što su debljina, hipertenzija, hiperlipidemija i dijabetes tipa 2 (21). U prosjeku se javlja u četrdesetim godinama života, no zamijećena je pojavnost i u mlađih od 30, kao i u starijih od 60 godina (91).

U anamnestičkim podacima potrebno je isključiti druge uzroke bolesti. Prema smjernicama Europskog društva za bolesti jetre, konzumacija alkohola iznad 30 g za muškarce, odnosno 20 g za žene, upućuje na alkoholnu bolest jetre (10), što odgovara i preporukama Američkog društva za proučavanje bolesti jetre (5). Neki lijekovi su povezani s oštećenjima jetre i anamnestički je potrebno isključiti njihovo korištenje. Među njima su najznačajniji i najbolje poznati amiodaron, metotreksat, tamoksifen, valproična kiselina, neki antiretrovirusni lijekovi i kemoterapeutici (92).

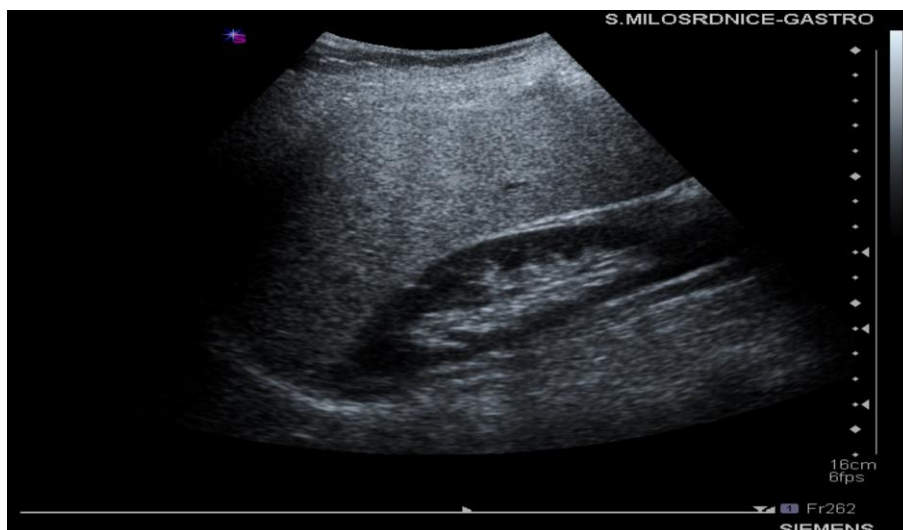
U statusu abdomena u otprilike 50% pacijenata moguće je utvrditi hepatomegaliju, a većina bolesnika je pretila s povećanim omjerom struk/bokovi, ukazujući na uglavnom prisutan abdominalni tip pretilosti. Ponekad također mogu biti prisutni klinički znakovi sindroma policističnih jajnika (PCOS, engl. *polycystic ovary syndrome*) kao što su akne i hirsutizam, iako nije potvrđena povezanost PCOS-a s nealkoholnom masnom jetrom, ali jest s inzulinskom rezistencijom. Znakovi uznapredovale kronične bolesti jetre, kao ginekomastija, telenagiektazije i varikoziteti rijetko se nađu na inicijalnom pregledu, a razviju se u manjeg dijela bolesnika kod kojih bolest progredira do terminalnog stadija (93).

## **4. 2. LABORATORIJSKI NALAZI**

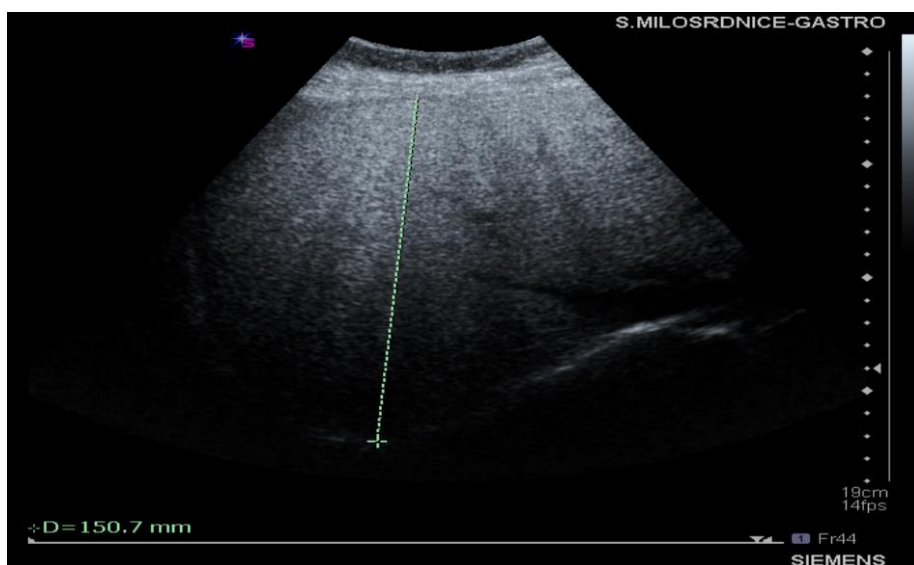
U većine bolesnika nalaze se povećane vrijednosti katalitičkih koncentracija alanin-aminotransferaze (ALT) i aspartat-aminotransferaze (AST), što je najčešće glavni razlog dodatne obrade pacijenta (91). U pravilu je omjer AST/ALT manji od 1, za razliku od alkoholne bolesti masne jetre, te nam takav omjer može poslužiti u diferencijalnoj dijagnozi. Ipak, s progresijom bolesti vrijednosti za AST-a rastu, što dovodi do porasta AST/ALT omjera (4). Vrijednosti za ALT nisu u korelaciji s uznapredovalošću bolesti, a svi entiteti spektra nealkoholne masne bolesti jetre mogu se javiti i u osoba s urednim vrijednostima katalitičke koncentracije ALT-a (94). Vrijednosti za GGT mogu biti povećane (91), kao i koncentracije feritina i tranferina (95). Koncentracije serumskog bilirubina i albumina, kao i parametri koagulacije uredni su ako nije riječ o uznapredovaloj bolesti (93). Za isključivanje drugih bolesti potrebno je odrediti protutijela na viruse uzročnike hepatitisa te imunoserološke nalaze koji bi ukazivali na autoimuni hepatitis (96). Potrebno je isključiti i nasljednu hemokromatozu, a povremeno i druge, rjeđe uzroke oštećenja jetre.

## **4. 3. SLIKOVNE METODE**

Ultrazvučnim pregledom bolesnika s masnom promjenom jetre zapaža se pojačana ehogenost jetre u usporedbi s drugim organima, na primjer korteksom bubrega, a dodatna obilježja su slabija ili onemogućena vizualizacija dijafragme, intrahepatalnih krvnih žila i stražnje stijenke desnog režnja. Ultrazvuk omogućuje i kvalitativno stupnjevanje uznapredovalosti bolesti, označavajući stupnjeve kao blagu, umjerenu i tešku steatozu. Blaga steatoza (stupanj 1) prezentira se s difuznim blagim porastom ehogenosti jetrenog parenhima s normalnom vizualizacijom dijafragme i krvnih žila (slika 3). Umjerenu steatozu (stupanj 2) karakterizira jači porast ehogenosti i slabije raspoznavanje dijafragme i stijenki krvnih žila, dok je u teškoj (stupanj 3) vizualizacija dodatnih struktura onemogućena uz izrazitu hiperehogenost (slika 4) (97).



*Slika 3.* Masna jetra: usporedba parenhima jetre koji je ehogeniji u odnosu na parenhim bubrega (tzv. hepatorenalni kontrast). Prema: Duvnjak (2015.), str. 24. (98)



*Slika 4.* Masna jetra: jetra je zaobljenih kontura i nejasnog prikaza krvnih žila i dijafragme (tzv. distalna atenuacija ultrazvuka u masnoj jetri). Prema Duvnjak (2015.) str. 24. (98)

Velika meta analiza 49 studija s 4720 bolesnika objavljena 2011. godine pokazuje ultrazvuk kao jasnu i pouzdanu metodu za detekciju masne jetre uz promjene  $\geq 20\%$ -30%, s osjetljivošću od 84,8% i specifičnošću od 93,6% u usporedbi s histološkim nalazom uzetim kao zlatni standard (99). Pojedine studije pokazuju da se osjetljivost smanjuje u pacijenata koji su prekomjerno debeli (100, 101), a retrospektivna studija objavljena 2007. godine ukazuje na

problem subjektivne interpretacije ultrazvučnih nalaza između pojedinih radiologa (102). Važno je spomenuti i značajno manju osjetljivost detekcije masne promjene jetre ukoliko je riječ o promjenama >5%, koja iznosi 61,7% odnosno 53,3%, ovisno o izvršitelju pretrage (103). Kako je studija Leeja i suradnika (103) uvrštena u veliku meta analizu, može se zadržati zaključak provedene meta analize da je ultrazvuk dovoljno pouzdana metoda detekcije umjerene do teške steatoze, te uz druge prednosti kao što su niski troškovi i minimalna štetnost, podržava uporabu ultrazvuka kao metode izbora u probiru za masnu jetru (99), uz oprez kod prekomjerno debelih pacijenata.

Kompjuterizirana tomografija (CT) još je jedna slikovna metoda u detekciji nealkoholne masne jetre, koja se temelji na apsorpcijskim koeficijentima jetrenog parenhima (tzv. Hounsfieldovim jedinicima) ovisnim o sastavu tkiva. Kako masno tkivo ima manje vrijednosti apsorpcijskih koeficijenata, masna infiltracija jetre smanjuje apsorpcijski koeficijent jetrenog parenhima (104). U studiji koja je koristila histološki nalaz kao zlatni standard, CT bez kontrasta pokazao se kao metoda visoke specifičnosti od 100%, ali niske osjetljivosti koja je za sve stupnjeve bolesti iznosila 11%, a 33% za steatozu >30%. S dodatkom kontrasta skromno raste osjetljivost metode na 50% za steatozu >30%, no specifičnost pada na 83%. Debljina nije utjecala na preciznost CT-a s kontrastom, ali je povezana sa smanjenjem preciznosti bezkontrastnog CT-a u dijagnostici bolesti (105). Rezultati su sukladni rezultatima studije Leeja i suradnika (103) na 161 potencijalnom živom donoru jetre, koja je koristila bezkontrastni CT, a dala je vrijednosti osjetljivosti CT-a za detekciju steatoze >5% od 50%, odnosno 72,7% za detekciju steatoze iznad 30%. Specifičnost je nešto veća pa kod blage steatoze iznosi 77,2%, a kod umjerene do teže 91,3% (103). Iz tih studija može se zaključiti da negativne nalaze CT-a možemo smatrati relevantnima, te nam više služi u isključivanju bolesti, dok je sposobnost CT-a u detekciji oboljelih manja, osobito u blažim oblicima steatoze s manje od 30% masne infiltracije.

Obje studije su uspoređivale i osobitosti magnetske rezonancije (MR) kao dijagnostičkog testa. U prvoj studiji osjetljivost u detekciji masne promjene >30% iznosi 88%, uz manju specifičnost

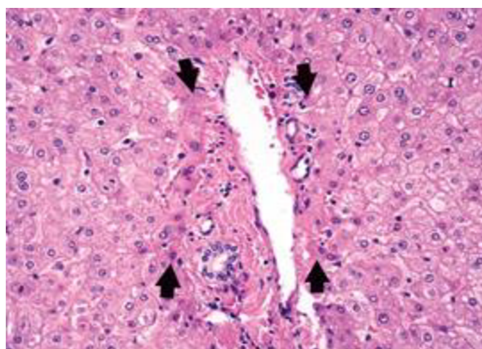
od 63%, dok Lee predstavlja MR kao metodu s vrijednostima osjetljivosti i specifičnosti preko 90%. Obje studije pokazuju i veću osjetljivost MR za dijagnostiku blage steatoze u odnosu na CT. Iako se podatci o osjetljivosti i specifičnosti u pojedinim studijama razlikuju, može se zaključiti da obje dijagnostičke pretrage imaju svoje prednosti, ali i nedostatke, te zahtijevaju oprez pri interpretaciji nalaza.

Spektroskopija magnetnom rezonancijom metoda je kojoj pojedini autori pripisuju sposobnost kvantifikacije nakupljene masti u jetri (107). U Leejevoj studiji zamijećena je manja pouzdanost spektroskopije naspram uobičajene snimke MR-om, osobito kada je riječ o dijagnozi >30% masne promjene. Analizom rezultata, Lee naglašava da je mogućnost detekcije steatoze pomoću MR spektroskopije manja u humanim studijama, naspram onim na animalnim modelima, što se može pripisati pogreškama prilikom izvođenja pretrage (103).

#### **4. 4. BIOPSIJA JETRE**

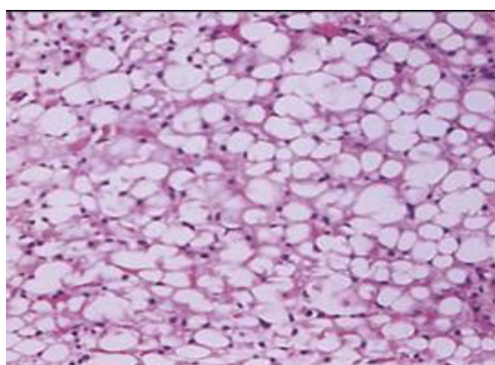
Biopsija jetre je zlatni standard za dijagnozu nealkoholne masne bolesti jetre, iako anamneza, fizikalni pregled, laboratorijski nalazi i slikovne metode mogu pretpostaviti dijagnozu uz isključenje drugih uzroka. Biopsija jetre jedini je način za konačnu potvrdu ili isključivanje prisutnosti nealkoholnog steatohepatitisa i za utvrđivanje uznapredovalosti bolesti (96).

Histološki nalazi mogu varirati, pa se ponekad unatoč sumnji na NAFLD može dobiti nalaz u kojem nema znakova masne bolesti jetre. U opisu takvih nalaza može se naći do 5% masnih promjena, s minimalnom upalom ili fibrozom (slika 5). Ponekad se može naći prisutna glikogenoza koja može biti i razlog promijenjenih nalaza na slikovnim metodama (107).



*Slika 5.* Histološki preparat jetre, bojanje hemalaun-eozinom x 100, arhiva Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju “Ljudevit Jurak”, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb. Uredan nalaz jetre (žučni kanalići, hepatična arteriola, potralna venula, jasno vidljiva *lamina limitans* (strelice))

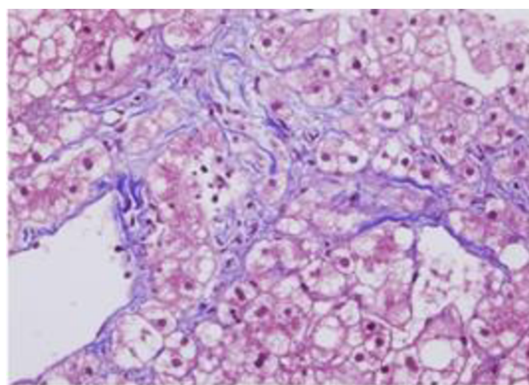
Za dijagnozu nealkoholne masne jetre karakteristični su značajni stupnjevi steatoze, najčešće makrovezikularne u zoni 3, koja može biti praćena blagom upalom ili fibrozom (slika 6). Upala je najčešće u obliku malih, mjestimično raspoređenih nakupina makrofaga ili limfocita, u pravilu nije prisutna u portalnim prostorima te nije praćena promjenama hepatocita koji bi sugerirali steatohepatitis. Ukoliko je prisutna fibroza, ona je blaga, a za dijagnozu isključivo masne jetre je ograničena na blagu periportalnu ili perisinusoidalnu fibrozu s nepotpunim znakovima steatohepatitisa (107).



*Slika 6.* Histološki preparat jetre, bojanje hemalaun-eozinom x 100, arhiva Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju “Ljudevit Jurak”, Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb. Masna jetra: makrovezikularna steatoza, bez nekro-inflamatorne aktivnosti i fibroze



Nealkoholni steatohepatitis histološki karakterizira baloniranje hepatocita. To je promjena u kojoj se stanice povećavaju, a citoplazma se nepravilno zaokružuje i nakuplja. Često će se u baloniranim stanicama naći i Mallory-Denk tjelešca kao eozinofilne inkluzije, najčešće u blizini jezgre. U ranim stadijima bolesti upala je najčešće lobularna, a steatoza, kao i u isključivo masnoj jetri, specifična za zonu 3 (slika 7). S progresijom bolesti, mijenja se zonalna distribucija steatoze, a upala se širi u portalne prostore. Fibroza nije nužna za postavljanje dijagnoze nealkoholnog steatohepatitisa, ali je čest nalaz. Najčešće počinje u zoni 3, a kasnije se razvija periportalna fibroza.

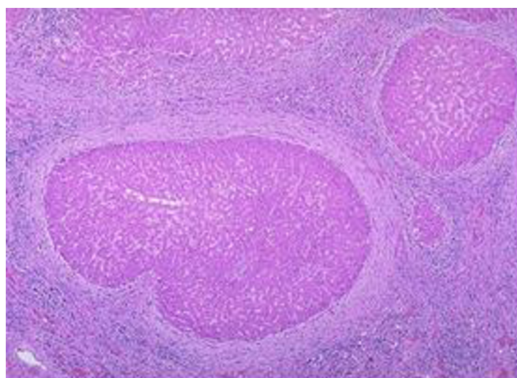


*Slika 7.* Histološki preparat jetre, histokemijsko bojenje prikaz veziva (Mallory) x 100, arhiva Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak", Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb. Nealkoholni steatohepatitis : steatoza, balonirani hepatociti, portalna upala i fibroza

Histološkim pregledom mogu se još vidjeti nakupine hepatocita s mikrovezikularnom steatozom, megamitohondriji, glikogenizirane jezgre, veliki lipogranulomi i hepatocelularna glikogenoza, no niti jedna od ovih histoloških osobitosti nije uključena u kriterije za postavljanje dijagnoze nealkoholne masne jetre ili nealkoholnog steatohepatitisa (107).

Konačni stadij bolesti je ciroza. Kako s napredovanjem bolesti osobitosti nealkoholne masne bolesti jetre postaju sve manje izražene, histološki se vidi samo uznapredovala fibroza i ciroza,

bez osobitosti steatohepatitisa (slika 8). Ukoliko je riječ o ponovljenoj biopsiji, uzrok ciroze se pretpostavlja po prethodnom nalazu biopsije, što može biti steatohepatitis. Kada je ciroza nalaz prve biopsije, uzrok se istražuje isključujući druge bolesti koje su mogle dovesti do ovako uznapredovale bolesti jetre, kao što su alkoholna bolest jetre ili autoimuni hepatitis (107).



*Slika 8.* Histološki preparat jetre, bojanje hemalaun-eozinom x 40, arhiva Kliničkog zavoda za patologiju i citologiju "Ljudevit Jurak", Klinički bolnički centar Sestre milosrdnice, Zagreb.   
Ciroza jetre: regeneratorni čvorići okruženi vezivnim tkivom

S obzirom da je biopsija invazivni postupak s mogućim morbiditetima i rijetko smrtnim ishodima, trebala bi se izvoditi u onih bolesnika kojima bi doprinijela u dijagnostičkom, terapijskom i prognostičkom pogledu (5,6). Prema smjernicama Europskog društva za bolesti jetre, biopsija je zadnja dijagnostička metoda koja se primjenjuje. Ukoliko je riječ o bolesniku s povećanim vrijednostima katalitičke koncentracije jetrenih enzima, osobito ako su prisutni i čimbenici rizika za NAFLD, dijabetes i debljina, potrebno je pokrenuti obradu neinvazivnim postupcima s ciljem detekcije NAFL-a, NASH-a i fibroze. Ukoliko ambulantno izvedivi postupci (NAFLD fibrosis score) ne isključuju postojanje fibroze, bolesnika je potrebno uputiti specijalistu na pregled tranzijentnom elastografijom. Tek nakon potvrde bolesti tim pretragama, prema smjernicama Europskog društva za bolesti jetre, indicirana je biopsija za potvrdu dijagnoze (10).

#### **4. 5. NEINVAZIVNE METODE ZA PROCJENU TEŽINE BOLESTI**

Postoje brojni neinvazivni postupci koji dijelom mogu zamijeniti biopsiju jetre u identifikaciji uznapredovale bolesti. Jedan od njih je tzv. „NAFLD fibrosis score“ koji procjenjuje uznapredovalost bolesti pomoću 6 lako mjerljivih varijabli: godine, hiperglikemija, indeks tjelesne mase, broj trombocita, koncentracija albumina i omjer AST/ALT. Studija Angula i suradnika (108) na 773 bolesnika pokazuje visoku pouzdanost metode u detekciji uznapredovale bolesti jetre, kao i isključivanju iste, te zaključuje da se korištenjem ovog testa biopsija jetre mogla izbjeći u 75% slučajeva (108). Mjerenje cirkulirajućeg citokeratina-18 u dijagnostici steatohepatitisa po nekim istraživanjima pokazuje dobre rezultate, ali još uvijek nije široko dostupno u svakodnevnoj praksi. Drugi serumski markeri koji pokazuju potencijal u dijagnostici NAFLD-a su fibroblastni čimbenik rasta 21 (FGF-21, od engl. fibroblast growth factor 21) (109), topljivi Fas receptori (110), hijaluronska kiselina, TNF $\alpha$  i IL-8 (111). Međutim, druga neinvazivna metoda pokazala se visoko osjetljiva i specifična za dijagnozu stupnja fibroze, a to je tranzijentna elastografija. Do sada je ispitana u brojnim studijama i s različitim indikacijama, a pokazala se kao brza, pouzdana i ponovljiva neinvazivna metoda u procjeni masne promjene jetre i fibroze. Osobiti značaj u korištenju ove metode je isključivanje uznapredovale fibroze čime se smanjuje provođenje nepotrebnih biopsija (112).

## 5. LIJEČENJE

Kao prva linija liječenja NAFLD preporučuju se promjene životnih navika u vidu gubitka tjelesne mase i povećanja tjelesne aktivnosti. U prilog tome idu studije koje potvrđuju učinkovitost ovih mjera u poboljšanju histološkog nalaza u bolesnika s NASH-om (113). Stoga smjernice Američkog društva za bolesti jetre savjetuju smanjenje tjelesne mase od oko 3-5% za poboljšanje steatoze, a više od 10% za poboljšanje steatohepatitisa. Pojačana tjelesna aktivnost, bez gubitka na masi povezana je sa smanjenjem steatoze, ali ne i s poboljšanjem steatohepatitisa (5) Režim prehrane i progresivno povećanje tjelesne aktivnosti trebaju biti individualno prilagođeni (10).

Iduća linija liječenja je farmakološka i preporučena je bolesnicima s uznapredovalim NASH-om ili pacijentima s manje razvijenom bolesti, ali s velikim rizikom za progresiju, a to su bolesnici stariji od 50 godina, bolesnici s dijabetesom, metaboličkim sindromom i povećanim vrijednostima ALT-a (10). S obzirom na patogenezu bolesti povezanu s inzulinskom rezistencijom, kao potencijalna terapija razmatrani su i ispitivani lijekovi koji povećavaju osjetljivost stanica na inzulin. Metformin, jedan od njih, ne pokazuje histološki poboljšanje bolesti u odnosu na placebo (114). Nasuprot tome, pioglitazon pokazuje učinak u smislu poboljšanja bolesti u svim stadijima od isključivo masne promjene do fibroze (115). Ipak, vezan je i uz nuspojave kao što su porast tjelesne mase, veći rizik od prijeloma kostiju kod žena i kongestivno zatajenje srca, te se preporuča samo za bolesnike koji uz NASH imaju i dijabetes tipa 2, za čije je liječenje pioglitazon jedna od preporučenih terapijskih opcija (10).

Vitamin E kao antioksidans također je razmatran kao moguća terapija. Iako studije daju različite podatke o učinkovitosti vitamina E (116), najveća randomizirana studija pokazuje pozitivne učinke u liječenju NASH-a u odraslih bolesnika bez dijabetesa (117). S obzirom na nuspojave pri dugotrajnom korištenju vitamina E, a to su ukupni porast mortaliteta, hemoragijski moždani udari i rizik razvoja karcinoma prostate (10), potreban je veći oprez pri odabiru vitamina E kao trajne terapije. Američko društvo za bolesti jetre razmatra dnevnu dozu

od 800 internacionalnih jedinica (IJ) kao efektivnu dozu za primjenu u bolesnika bez dijabetesa, s histološki dokazanim NASH-om, dok Chopra i Lai (118) savjetuju dnevnu dozu od 400 IJ u pacijenata s uznapredovalom fibrozom. Ipak, većina se slaže da je potrebno još studija koje potvrđuju učinkovitost vitamina E prije davanja preporuke za širu upotrebu u liječenju NAFLD. Među ostalim razmatranim farmakološkim opcijama su ursodeoksikolna kiselina i  $\omega$ -3 nezasićene masne kiseline, no niti jedno od njih se ne preporučuje kao specifična terapija za NAFLD ili NASH (5).

Dodatna farmakološka terapija koja se koristi u bolesnika s NASH-om su statini. Iako je jedna od nuspojava statina porast koncentracije aminotransferaza u serumu, nije potvrđen pojačan rizik od razvoja statinima uzrokovane kronične bolesti jetre u oboljelih od NASH-a. To ih čini sigurnim za liječenje dislipidemije u ovoj populaciji, za koju studije pokazuju da su i više izložene riziku od kardiovaskularnih oboljenja. Iako postoje i neke studije koje pokazuju pozitivne učinke statina na histološki nalaz bolesnika s NASH-om, statini se ipak ne preporučuju kao specifična terapija za NASH (5).

Posljednja linija liječenja je operacijska. Ugradnja želučane premosnice smatra se jednom od terapijskih opcija u pretilih bolesnika s ITM  $> 35 \text{ kg/m}^2$  koji ne reagiraju na konzervativno liječenje. Na pregledu nakon 1 godine od operacije pokazano je izliječenje NASH-a u 85% bolesnika podvrgnutih barijatrijskom kirurškom zahvatu (10,119). Ipak, prilikom donošenja odluke potrebno je potencijalne koristi operativnog zahvata usporediti sa rizicima od peri- i post-operativnih komplikacija (10).

U slučaju razvoja ciroze jetre i njezinih komplikacija, transplantacija jetre je prihvaćeni terapijski postupak koji jedini u fazi dekompenzirane bolesti bolesnicima pruža mogućnost dugotrajnog preživljenja (10).

## 6. PROGNOZA BOLESTI

Nealkoholna masna bolest jetre može dovesti do ciroze i smrtnog ishoda uzrokovanog bolešću jetre (7), a studije pokazuju i generalno veću smrtnost u bolesnika s NAFLD-om u usporedbi s općom populacijom (120). U zadnjoj provedenoj meta analizi studija o progresiji bolesti, dobiveni su podaci da u 36% bolesnika s NAFLD-om fibroza progredira, u 46% bolest ostaje sabilna, a u 21% se poboljšava. Studija je također pokazala da i bolesnici s NAFLD-om mogu razviti progresivnu fibrozu, iako nešto sporije od pacijenata s NASH-om. Znakovi upale, nedovoljni za postavljanje dijagnoze steatohepatitsa, smatraju se čimbenikom rizika za progresiju NAFLD-a (121).

U pacijenata s NASH-om, prepoznati su čimbenici rizika povezani s progresijom bolesti: dijabetes tipa 2 (122), starija dob (123), debljina (124) kao i više vrijednosti indeksa visceralne pretilosti (VAI, engl. *visceral adiposity index*) koji u izračun uzima opseg struka, indeks tjelesne mase (ITM), trigliceride i vrijednosti HDL-a (125). Studije pokazuju i povezanost NASH-a s razvojem hepatocelularnog karcinoma (126).

Ipak, glavni uzrok smrtnosti u pacijenata s NAFLD-om su kardiovaskularne bolesti, a dokazana povezanost ovih dvaju morbititeta ukazuje na potrebu za otkrivanjem i praćenjem rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti u svih pacijenata s nealkoholnom masnom bolesti jetre (127).

## 7. ZAKLJUČAK

Nealkoholna masna bolest jetre relativno je novi klinički entitet čija je pojavnost sve veća, u skladu s povećanom pojavnosti čimbenika rizika koji dovode do nje, u prvom redu debljine i šećerne bolesti tipa 2, te se može pretpostaviti da će se trend porasta nastaviti i u budućnosti. Patogenetski mehanizmi koji dovode do razvoja bolesti su složeni i još nedovoljno poznati, te su predmet stalnih istraživanja, jer mogu postati ciljna mjesta terapijskih djelovanja. Iako je klinička slika nespecifična, svako povećanje katalitičke koncentracije jetrenih enzima, nakon isključenja drugih uzroka kronične bolesti jetre, potencijalno ukazuje na nealkoholnu masnu bolest jetre. Slikovne metode, prvenstveno ultrazvuk, mogu poslužiti u dijagnostici masne promjene, ali biopsija ostaje zlatni standard za potvrdu dijagnoze i procjenu uznapređovalosti bolesti. Zbog invazivnosti, neugode i mogućih komplikacija biopsije, sve više se traže neinvazivni postupci koji bi s jednakom pouzdanošću dali podatke o uznapređovalosti steatoze, upale i fibroze, a među kojima se danas sve češće koriste tranzijentna elastografija i serološki biljezi fibroze. Liječenje je individualno, a ovisi o uznapređovalosti bolesti i komorbiditetima. Jedan dio oboljelih može razviti i smrtne ishode vezane uz samu jetrenu bolest, ali češće uz pridružene kardiovaskularne bolesti, stoga je potrebno usmjeriti pažnju na otkrivanje bolesnika s nealkoholnom masnom bolesti jetre i rizika kojima su izloženi, te ih liječiti i pratiti radi sprječavanja i liječenja komplikacija.

## **8. ZAHVALE**

Prvo se zahvaljujem svojoj mentorici doc. dr. sc. Luciji Virović Jukić na sveukupnoj pomoći prilikom izrade rada, na razumijevanju za sve moje nejasnoće, te na svim savjetima koji su omogućili da rad bude što kvalitetniji.

Potom zahvala svim kolegama na potpori, kako prilikom izrade diplomskog, tako i tijekom cijelog studiranja.

Najveće zahvale idu mojim najbližim prijateljima i obitelji koji su bili uz mene zadnjih šest godina, pokazali ljubav i razumijevanje za moje potrebe tijekom studija te pružili najveću moguću potporu da ga završim.



## 9. LITERATURA

1. Younossi ZM, Stepanova M, Afendy M, Fang Y, Younossi Y, Hesham M, i sur. Changes in the Prevalence of the Most Common Causes of Chronic Liver Diseases in the United States From 1988 to 2008. Clin Gastroenterol Hepatol. 2001;9(6):524-530.
2. Eurostat Statistic Explained; Causes of death statistics; ažurirano 8. veljače 2018., pristupljeno 13. travnja 2018. Dostupno na: [http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Causes\\_of\\_death\\_statistics](http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Causes_of_death_statistics)
3. Kochane KD, Murphy SL, Xu J, Tejada-Vera B. Deaths: final data for 2014. Natl Vital Stat Rep. 2016;65(4):1-122.
4. Sattar N, Forrest E, Preiss D. Non-alcoholic fatty liver disease. BMJ 2014; 349:g4596
5. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JF, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K i sur., The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. Gastroenterology. 2012;142(7):1592-1609.
6. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JF, Charlton M, Cussi K, Rinella M i sur., The Diagnosis and Management of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guidance From the American Association for the Study of Liver Diseases. Hepatology. 2018;67(1):328-357.
7. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ, Nonalcoholic fatty liver disease: A spectrum of clinical and pathological severity. Gastroenterology. 1999;166(6):1412-1419.
8. Caldwell SH, Crespo SM., The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. 2004; 40(4):578-584.
9. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ, Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experience with a hitherto unnamed disease. Mayo Clin Proc. 1980; 55(7):434-438.

10. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines for the management of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*. 2016;64(6):1388-1402.
11. Suzuki A, Angulo P, Lymp J, St Sauver J, Muto A, Okada T, Lindor K. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology*. 2005;41(1):64-71.
12. Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. The metabolic syndrome as a predictor of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005;143(10):722-728.
13. Whalley S, Puvanachandra P, Desai A, Kennedy H. Hepatology outpatient service provision in secondary care: a study of liver disease incidence and resource costs. *Clin Med*. 2007;7(2):119-124.
14. Allen AM, Therneau TM, Larson JL, Coward A, Somers VK, Kamath PS., Nonalcoholic fatty liver disease incidence and impact on metabolic burden and death: A 20 year-community study. *Hepatology*. 2018;67(5):1726-1736.
15. Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease - Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes. *Hepatology*. 2016;64(1):73-84.
16. Lazo M, Hernaez R, Eberhardt MS, Bonekamp S, Kamel I, Guallar E i sur, Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the United States: The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994, *Am J Epidemiol*. 2013;178(1):38-45.
17. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology*. 1990; 12(5):1106-1110.
18. Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: A study of 49 patients. *Hum Pathol*. 1989; 20(6):594-598.
19. Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ i sur., Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance., *Am J Med*. 1999;107(5):450-455.
20. Expert Panel on Detection Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education

- Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001;285:2486-2497.
21. Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R i sur., Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. Hepatology. 2003;37(4):917-923.
22. Ng M, Fleming T, Margaret Robinson M, Blake Thomson B, Nicholas Graetz N, Margono C i sur., Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. Lancet. 2014; 384(9945):766-781.
23. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. Aliment Pharmacol Ther. 2011;34(3):274-285.
24. Ong JP, Elariny H, Collantes R, Younoszai A, Chandhoke V, Reines HD i sur, Predictors of nonalcoholic steatohepatitis and advanced fibrosis in morbidly obese patients. Obes Surg 2005;15(3):310-315.
25. Koye DN, Magliano DJ, Nelson RG, Pavkov ME. The Global Epidemiology of Diabetes and Kidney Disease. Adv Chronic Kidney Dis. 2018;25(2):121-132.
26. Leite NC, Salles GF, Araujo AL, Villela-Nogueira CA, Cardoso CR. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. Livet Int. 2009; 29(1):113-119.
27. Gomerčić M, Duvnjak M, Barsić N. Ultrazvuk u dijagnostici nealkoholne masne bolesti jetre. Acta Med Croatica. 2009 Dec;63 Suppl 3:1-3. Croatian.
28. Musić Milanović S. Demografske, bihevioralne i socioekonomske odrednice debljine odraslih u Hrvatskoj. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu, 2010.
29. Nacionalni registar osoba sa šećernom bolesti CroDiab. Izvješće za 2015. Poljičanin T, Benjak T, ur [Internet] Zagreb, 2016. Hrvatsko zavod za javno zdravstvo. [pristupljeno 04. lipnja 2018.]. Dostupno na: <https://www.hzjz.hr/wp-content/uploads/2017/04/Izvje%C5%A1%C4%87e-za-2015.-godinu.pdf>

30. Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske. Procjena stanovništva Republike Hrvatske U 2015. [Internet] Zagreb, 14. rujna 2016. Državni zavod za statistiku Republike Hrvatske [pristupljeno 04.06.2018.]. Dostupno na:  
[https://www.dzs.hr/Hrv\\_Eng/publication/2016/07-01-04\\_01\\_2016.htm](https://www.dzs.hr/Hrv_Eng/publication/2016/07-01-04_01_2016.htm)
31. Mikolasevic I, Milic S, Orlic L, Stimac D, Franjic N, Targher G. Factors associated with significant liver steatosis and fibrosis as assessed by transient elastography in patients with one or more components of the metabolic syndrome. *J Diabetes Complications*. 2016;30(7):1347-1353.
32. Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"?. *Gastroenterology*. 1998;114(4):842-845.
33. Basaranoglu M, Basaranoglu G i Senturk H. From fatty liver to fibrosis: A tale of "second hit". *World J Gastroenterol*. 2013;19(8),1158-1165.
34. Jou J, Choi SS, Diehl AM. Mechanisms of disease progression in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis*. 2008;28(4):370-379.
35. Buzzetti E, Pinzani M, Tsochatzis EA. The multiple-hit pathogenesis of non-alcoholic fatty. *Metabolism*. 2016 Aug;65(8):1038-1048.
36. Duvnjak M, Lerotić I, Baršić N, Tomašić V, Virović Jukić L, Velagić V. Pathogenesis and management issues for non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2007;13(34):4539-4550.
37. Haiyan Xu, Glenn TB, Qing Y, Guo T, Daseng Y, Chieh JC i sur., Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003; 112(12):1821–1830.
38. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*. 2001;414(6865):799– 806.
39. Choudhury J, Sanyal AJ. Insulin resistance and the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis*. 2004;8(3):575-594.
40. Pessin JE, Saltiel AR. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest*. 2000;106(2):165–169.

41. Eberlé D, Hegarty B, Bossard P, Ferré P, Fufelle F. SREBP transcription factors: master regulators of lipid homeostasis. *Biochimie*. 2004; 86(11):839-848.
42. Laviola L, Perrini S, Cignarelli A, Giorgino F. Insulin signalling in human adipose tissue. *Arch Physiol Biochem*. 2006;112(2):82-88.
43. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med*, 2013;7(1):14-24.
44. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2548-2556.
45. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *Jama*, 1999;282(22):2131-2135.
46. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW Jr. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1796-1808.
47. Lumeng CN, Bodzin JL, Saltiel AR, Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117(1):175–184.
48. Serino M, Menghini R, Fiorentino L, Amoruso R, Mauriello A, Lauro D i sur. Mice heterozygous for tumor necrosis factor-alpha converting enzyme are protected from obesity-induced insulin resistance and diabetes. *Diabetes*, 2007;56(10):2541-2546.
49. Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, Olszanecka-Glinianowicz M i Zurakowski A. Serum concentrations of TNF- $\alpha$  and soluble TNF- $\alpha$  receptors in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24(11):1392-1395.
50. Löfgren P, van Harmelen V, Reynisdottir S, Näslund E, Rydén M, Rössner S i sur, Secretion of tumor necrosis factor-alpha shows a strong relationship to insulin-stimulated glucose transport in human adipose tissue. *Diabetes*. 2000;49(5):688-692.
51. Borst SE, The role of TNF- $\alpha$  in insulin resistance. *Endocrine*. 2004;23(2-3):177-182.
52. Xu H, Hirosumi J, Uysal KT, Guler AD, Hotamisligil GS. Exclusive action of transmembrane TNF- $\alpha$  in adipose tissue leads to reduced adipose mass and local but not systemic insulin resistance. *Endocrinology*. 2002;143(4):1502-1511.

53. Arner P, The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14(3):137-145.
54. Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2007;10(2):142-148.
55. Koek GH, Liedorp PR, Bast A. The role of oxidative stress in non-alcoholic steatohepatitis. *Clin Chim Acta.* 2011;412(15-16):1297-1305.
56. Bocher V, Pineda-Torra I, Fruchart JC, Staels B. PPARs: transcription factors controlling lipid and lipoprotein metabolism. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;967:7-18.
57. Gusdon AM, Song KX, Qu S. Nonalcoholic fatty liver disease: pathogenesis and therapeutics from a mitochondria-centric perspective. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:637027
58. Robertson G1, Leclercq I, Farrell GC. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis. II. Cytochrome P-450 enzymes and oxidative stress. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2001;281(5):G1135-1139.
59. Weltman MD, Farrell GC, Hall P, Ingelman-Sundberg M, Liddle C Hepatic cytochrome P450 2E1 is increased in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology.* 1998;27(1):128-133.
60. Chalasani N, Gorski JC, Asghar MS, Asghar A, Foresman B, Hall SD i sur. Hepatic cytochrome P450 2E1 activity in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis *Hepatology.* 2003;37(3):544-550.
61. Natarajan SK, Eapen CE, Pullimood AB i Balasubramanian KA. Oxidative stress in experimental liver microvesicular steatosis: Role of mitochondria and perxisomes. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21(8):1240-1249.
62. Zhang Y, Marcillat O, Giulivi C, Ernster L, Davies KJ. The oxidative inactivation of mitochondrial electron transport chain components and ATPase. *J Biol Chem.* 1990;265(27):16330-16336.

63. Shokolenko I, Venediktova N, Bochkareva A, Wilson GL, Alexeyev MF. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(8):2539-2548.
64. Sanyal AJ. The pathogenesis of NASH: human studies. U: Farrel GC, George J, Hall PM, McCullough AJ. *Fatty Liver Disease: NASH and Related Disorders.* Massachusetts etc. Blackwell Publishing. 2005. str.76-90.
65. Cortez-Pinto H, Chatham J, Chacko VP, Arnold C, Rashid A, Diehl AM. Alterations in liver ATP homeostasis in human nonalcoholic steatohepatitis: a pilot study. *JAMA.* 1999;282(17):1659-1664.
66. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK i sur, Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology.* 2001;120(5):1183-1192.
67. Feldstein AE, Canbay A, Angulo P, Taniai M, Burgart LJ, Lindor KD i sur, Hepatocyte apoptosis and fas expression are prominent features of human nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology.* 2003;125(2):437-443.
68. Cortez-Pinto H, de Moura MC, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis: from cell biology to clinical practice. *J Hepatol.* 2006;44(1):197-208.
69. Pessayre D, Fromenty B. NASH: a mitochondrial disease. *J Hepatol.* 2005;42(6):928-940
70. Tripathy D, Mohanty P, Dhindsa S, Syed T, Ghanim H, Aljada A i sur., Elevation of free fatty acids induces inflammation and impairs vascular reactivity in healthy subjects. *Diabetes.* 2003;52(12):2882-2887.
71. Ding WX, Yin XM. Dissection of the multiple mechanisms of TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in liver injury. *J Cell Mol Med.* 2004;8(4):445-454.
72. Brauersreuther V, Viviani GL, Mach F, Montecucco F. Role of cytokines and chemokines in non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2012;18(8):727-735.

73. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(7):397-341.
74. Ramadori G, Saile B. Portal tract fibrogenesis in the liver. *Lab Invest*. 2004;84(2):153-159.
75. Elpek GÖ. Cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of liver fibrosis: An update. *World J Gastroenterol*. 2014;20(23):7260-7276.
76. Albano E, Mottaran E, Vidali M, Reale E, Saksena S, Occhino G i sur, Immune response towards lipid peroxidation products as a predictor of progression of non-alcoholic fatty liver disease to advanced fibrosis. *Gut*. 2005;54(7):987-993.
77. Leclercq IA, Farrell GC, Schriemer R, Robertson GR. Leptin is essential for the hepatic fibrogenic response to chronic liver injury. *J Hepatol*. 2002;37(2):206-213.
78. Targher G, Bertolini L, Rodella S, Zoppini G, Scala L, Zenari L i sur,. Associations between plasma adiponectin concentrations and liver histology in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2006;64(6):679-683.
79. Washington K, Wright K, Shyr Y, Hunter EB, Olson S, Raiford DS. Hepatic stellate cell activation in nonalcoholic steatohepatitis and fatty liver. *Hum Pathol*. 2000;31(7):822-828.
80. Tsochatzis E1, Papatheodoridis GV, Archimandritis AJ. The evolving role of leptin and adiponectin in chronic liver diseases. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(11):2629-2640.
81. Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KSL, Cooper GJS. The fat-derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *Journal of Clinical Investigation*. 2003;112(1):91-100.
82. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*. 2001;7(8),947-953.
83. Dong Z, Su L, Esmaili S, Iseli TJ, Ramezani-Moghadam M, Hu L i sur. Adiponectin attenuates liver fibrosis by inducing nitric oxide production of hepatic stellate cells. *J Mol Med (Berl)*. 2015;93(12):1327-1339.



84. Stojšavljević S, Gomerčić Palčić M, Virović Jukić L, Smirčić Duvnjak L, Duvnjak M. Adipokines and proinflammatory cytokines, the key mediators in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *World j Gastroenterol*. 2014;20(48):18070-18091
85. Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Fagà E i sur. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology*. 2005;42(5):1175-1183.
86. Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science*. 1996;274(5290):1185-1188.
87. Wigg A, Roberts-Thomson I, Dymock R, McCarthy P, Grose R, Cummins A. The role of small intestinal bacterial overgrowth, intestinal permeability, endotoxaemia, and tumour necrosis factor  $\alpha$  in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Gut*. 2001;48(2):206-211.
88. Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R i sur, Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2009;49(6):1877-87
89. Nair S, Cope K, Risby TH, Diehl AM. Obesity and female gender increase breath ethanol concentration: potential implications for the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Gastroenterol*. 2001;96(4):1200-1204.
90. Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB i sur. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2003;37(2):343-350.
91. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology*. 1994;107(4):1103-1109.
92. Rabinowich L, Shibolet O. Drug Induced Steatohepatitis: An Uncommon Culprit of a Common Disease. *BioMed Research International*. 2015;2015:168905. doi:10.1155/2015/168905.

93. Harrison SA, Neuschwander-Tetri B. Clinical manifestations and diagnosis of NAFLD  
U: Farrel GC, George J, Hall PM, McCullough AJ. Fatty Liver Disease: NASH and  
Related Disorders. Massachusetts etc. Blackwell Publishing. 2005. str. 159-167.
94. Mofrad P, Contos MJ, Haque M, Sargeant C, Fisher RA, Luketic VA i sur., Clinical and  
histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT  
values. Hepatology. 2003;37(6):1286-1292.
95. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in  
patients with nonalcoholic steatohepatitis. Hepatology. 1999;30(6):1356-1362.
96. Sheth SG, Chopra S. Epidemiology, clinical features, and diagnosis of nonalcoholic  
fatty liver disease in adults. U: UpToDate, Post TW ur. UpToDate [Internet]. Waltham,  
MA: UpToDate; 2018. [pristupljeno 09.ožujka 2018.] Dostupno na:  
<http://www.uptodate.com>
97. Gerstenmaier JF, Gibson RN. Ultrasound in chronic liver disease. Insights into  
Imaging. 2014;5(4):441-455.
98. Duvnjak M, Tomašić V. Difuzne bolesti jetre. U: Duvnjak M. i suradnici: Ultrazvuk  
abdomena. Medicinska naklada, Zagreb, 2015, str. 23-39.
99. Hernaez R, Lazo M, Bonekamp S, Kamel I, Brancati FL, Guallar E i sur. Diagnostic  
Accuracy and Reliability of Ultrasonography for the Detection of Fatty Liver: A Meta-  
Analysis. Hepatology. 2011;54(3):1082-1090.
100. Mottin CC, Moretto M, Padoin AV, Swarowsky AM, Toneto MG, Glock L i sur.  
The role of ultrasound in the diagnosis of hepatic steatosis in morbidly obese patients.  
Obes Surg. 2004;14(5):635-637.
101. De Moura Almeida A, Cotrim HP, Barbosa DBV, de Athayde LGM., Santos AS,  
Bitencourt AGV i sur., Fatty liver disease in severe obese patients: Diagnostic value  
of abdominal ultrasound. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2008;14(9):1415-  
1418.

102. Strauss S, Gavish E, Gottlieb P, Katsnelson L. Interobserver and intraobserver variability in the sonographic assessment of fatty liver. *AJR Am J Roentgenol.* 2007;189(6):W320-3.
103. Lee SS, Park SH, Kim HJ, Kim SY, Kim MY, Kim DY, i sur. Noninvasive assessment of hepatic steatosis: prospective comparison of the accuracy of imaging examinations. *J Hepatol.* 2010;52:579–585.
104. Lee SS, Park SH. Radiologic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014;20(23):7392-7402.
105. Cho CS, Curran S, Schwartz LH, Kooby DA, Klimstra DS, Shia J i sur, Preoperative radiographic assessment of hepatic steatosis with histologic correlation. *J Am Coll Surg.* 2008;206(3):480-488.
106. Springer F, Machann J, Claussen CD, Schick F, Schwenzler NF. Liver fat content determined by magnetic resonance imaging and spectroscopy. *World Journal of Gastroenterology : WJG.* 2010;16(13):1560-1566.
107. Kleiner DE, Brunt EM. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathologic Patterns and Biopsy Evaluation in Clinical Research. *Semin Liver Dis* 2012;32(01):003-013
108. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, Bugianesi E, George J, Farrell GC i sur, The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology.* 2007;45(4):846-854.
109. Rusli F, Deelen J, Andriyani E, Boekschoten MV, Lute C, van den Akker EB i sur, Fibroblast growth factor 21 reflects liver fat accumulation and dysregulation of signalling pathways in the liver of C57BL/6J mice. *Scientific Reports.* 2016;6:30484.
110. Tarek I, Tamimi AR, Elgouhari HM, Alkhouri N, Yerian LM, Berk MP, Lopez R i sur. An apoptosis panel for nonalcoholic steatohepatitis diagnosis. *Journal of Hepatology* 2011;54(6):1224-1229
111. Bahcecioglu IH, Yalniz M, Ataseven H, Ilhan N, Ozercan IH, Seckin D i sur. Levels of serum hyaluronic acid, TNF-alpha and IL-8 in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatogastroenterology.* 2005;52(65):1549-1553.

112. Mikolasevic I, Orlic L, Franjic N, Hauser G, Stimac D, Milic S. Transient elastography (FibroScan®) with controlled attenuation parameter in the assessment of liver steatosis and fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease - Where do we stand? *World Journal of Gastroenterology*. 2016;22(32):7236-7251.
113. Promrat K, Kleiner DE, Niemeier HM, et al. Randomized Controlled Trial Testing the Effects of Weight Loss on Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH). *Hepatology*. 2010;51(1):121-129.
114. Haukeland JW, Konopski Z, Eggesbø HB, von Volkmann HL, Raschpichler G, Bjørro K i sur., Metformin in patients with non-alcoholic fatty liver disease: a randomized, controlled trial. *Scand J Gastroenterol*. 2009;44(7):853-860.
115. Boettcher E, Csako G, Pucino F, Wesley R, Loomba R. Meta-analysis: pioglitazone improves liver histology and fibrosis in patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35(1):66-75.
116. Musso G, Gambino R, Cassader M, Pagano G. A meta-analysis of randomized trials for the treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2010;52(1):79-104.
117. Sanyal AJ, Chalasani N, Kowdley KV, McCullough A, Diehl AM, Bass NM i sur. Pioglitazone, vitamin E, or placebo for nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2010;362(18):1675-1685.
118. Chopra S, Lai M. Natural history and management of nonalcoholic fatty liver disease in adults. U: UpToDate, Post TW ur. UpToDate [Internet]. Waltham, MA: UpToDate; 2018. [pristupljeno 09.03.2018.] Dostupno na: <http://www.uptodate.com>
119. Lassailly G, Caiazzo R, Buob D, Pigeyre M, Verkindt H, Labreuche J i sur. Bariatric Surgery Reduces Features of Nonalcoholic Steatohepatitis in Morbidly Obese Patients. *Gastroenterology*. 2015;149(2):379-388.
120. Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A i sur. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology*. 2005;129(1):113-121.

121. Singh S, Allen AM, Wang Z, Prokop LJ, Murad MH, Loomba R. Fibrosis Progression in Nonalcoholic Fatty Liver versus Nonalcoholic Steatohepatitis: A Systematic Review and Meta-analysis of Paired-Biopsy Studies. *Clinical gastroenterology and hepatology*. 2015;13(4):643-654.
122. Hossain N, Afendy A, Stepanova M, Nader F, Srishord M, Rafiq N i sur. Independent predictors of fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009;7(11):1224-1229.
123. Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 2009;51(2),371-379.
124. Ratziu V, Giral P, Charlotte F, Bruckert E, Thibault V, Theodorou I i sur, Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology*. 2000;118(6):1117-1123.
125. Petta S, Amato MC, Di Marco V, Cammà C, Pizzolanti G, Barcellona MR i sur. Visceral adiposity index is associated with significant fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35(2):238-247
126. Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P i sur., Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2002;123(1):134-140.
127. Targher G, Marra F, Marchesini G. Increased risk of cardiovascular disease in non-alcoholic fatty liver disease: causal effect or epiphenomenon? *Diabetologia*. 2008;51(11):1947-1953.

## 10. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 20.prosinca 1993. godine u Münchenu, Njemačka, a u Hrvatsku sam se doselila 1997. godine. U Svetoj Nedelji sam završila osnovnu školu, te 2008. sam upisala VII. Gimnaziju u Zagrebu koju sam završila s odličnim uspjehom. Godine 2012. upisujem Medicinski fakultet u Zagrebu koji redovno završavam 2018. godine. Tijekom studija bila sam član Studentske sekcije za pedijatriju, volontirala u udruzi Linija za rijetke bolesti i na projektu „Pogled u sebe“. Tijekom studija položila sam tečaj osnovnog održavanja života uz korištenje automatskih vanjskih defibrilatora (BLS, od engl. *Basic life support*) i tečaj neposrednog održavanja života (ILS, od engl. *Immediate Life Support*), službene tečajeve Europskog društva za reanimatologiju.